细胞色素 P450 介导的昆虫抗药性的分子机制

邱星辉

(中国科学院动物研究所,农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室,北京 100101)

摘要: 细胞色素 P450(简称 P450) 对杀虫剂的代谢作用直接影响到昆虫对杀虫剂的耐受性和杀虫剂对昆虫的选择性,由 P450 介导的杀虫剂代谢解毒作用的增强是昆虫产生抗药性的常见而重要的机制。P450 介导的杀虫剂代谢抗性具有普遍性、交互抗性与进化可塑性的特点,涉及 P450 基因重复与基因扩增、基因转录上调以及结构基因的变异等多样化的分子机制,并且多重机制的共同作用可以导致高水平抗药性。这些研究发现说明,无论是昆虫抗药性机制的研究,还是抗药性监测与治理都要有动态的、因地制宜的理念。

关键词: 昆虫; 细胞色素 P450; 杀虫剂; 抗药性; 分子机制; 抗性治理

中图分类号: Q965.9　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0454-6296(2014)04-0477-06

Molecular mechanisms of insecticide resistance mediated by cytochrome P450s in insects

QIU Xing-Hui (State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: Although cytochrome P450s have been well known to play crucial roles in insecticide resistance in insects, the mechanisms of P450-based metabolic resistance have not been fully characterized at the molecular level. Thanks to the development of genomics and biochemical techniques, rapid advances in the studies on the mechanisms of P450-mediated insecticide resistance have been achieved in recent years. This review attempts to summarize the current understandings in this field. P450-mediated resistance is a very common mechanism for almost all types of insecticides, and a single P450 enzyme may confer cross-resistance to different classes of pesticides. Variable genetic basis of resistance has been documented between populations resistant to the same insecticide due to multiple P450 options for evolving resistance. P450-mediated resistance may be due to either increased enzyme production (via enhanced transcription and/or gene duplication and amplification), or a change in structural gene itself that may alter the catalytic properties of the enzyme (caused by point mutations), or gene recombination of two closely linked genes that creates a chimeric enzyme with a novel ability. Constitutive transcriptional overexpression of resistance-associated P450 can be caused by *cis*- or/and *trans*-acting factors that have not been well understood. These findings suggest that mechanisms underlying P450-mediated insecticide resistance are diverse and complicated, and resistance monitoring and management should be customized for specific populations in a dynamic context.

Key words: Insect; cytochrome P450; insecticide; insecticide resistance; molecular mechanism; resistance management

细胞色素 P450(简称 P450)是广泛存在于几乎所有生物体中的一类古老的蛋白超家族。该类蛋白于 1958 年首次发现(Klingenberg, 1958),其生物化学本质于 1962 年得到初步解析(Omura and Sato, 1962),为含血红素的金属硫醇盐蛋白,其还原态与 CO 结合后在 450 nm 有特征吸收峰(Omura and Sato, 1962, 1964)。P450 因其种类多样性和生物学重要性,50 多年来一直得到了广泛的关注,取得的研究发现被广泛应用于药物开发、疾病治疗、化学合成和环境保护等领域。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172160); 国家重点基础发展研究规划("973"计划)项目(2012CB114103)

作者简介: 邱星辉, 男, 1965 年生, 博士, 研究员, 研究方向为药剂毒理学与昆虫分子生物学, E-mail: qiuxh@ioz.ac.cn

收稿日期 Received: 2013-12-15; 接受日期 Accepted: 2014-04-13

昆虫 P450 以多种不同的类型共存于同一生物体中,不同昆虫 P450 基因的数量存在差异,已知基因组的昆虫中 P450 基因的数量介于 36 ~ 170 种之间(Feyereisen, 2012)。昆虫 P450 兼具氧化酶和单加氧酶的功能,不仅参与了许多内源性生理物质的合成或分解,还催化结构各异的外源性物质(包括植物有毒物质、杀虫剂和环境污染物)的代谢,在昆虫的生长发育和对环境的适应性方面起着非常重要的作用(Feyereisen, 2012)。在分子水平上,已证明至少 6 种 P450 (CYP302A1, CYP306A1, CYP307A1, CYP314A1, CYP315A1 和 CYP18A1)参与了果蝇蜕皮激素代谢,直翅类昆虫的 CYP15A1 和家蚕的 CYP15C1 在保幼激素的合成过程中起重要作用(Iga and Kataoka, 2012)。此外,还发现果蝇 CYP4G1 参与了表皮烃类物质的生物合成(Qiu *et al.*, 2012),而 CYP6A20 可通过调控果蝇对信息素的敏感性来调节其挑衅行为(Wang *et al.*, 2008)。大量事实表明,P450 对植物次生性有毒物质的代谢解毒能力决定了昆虫的寄主范围(Schuler, 2011);其对杀虫剂的代谢(解毒或活化)关系到昆虫对杀虫剂的耐受性和杀虫剂对昆虫的选择性, P450 介导的杀虫剂代谢解毒作用的增强是昆虫产生抗药性的常见而重要的机制(Feyereisen, 2012)。

P450 在昆虫抗药性中的作用已被广泛认知,但由于 P450 的种类多样性、催化机制复杂性以及研究技术的难度等条件的限制,在分子水平上揭示 P450 介导的昆虫抗药性的机制在近 10 来才逐渐有较快速的发展。本文从 P450 介导抗药性的普遍性、交互抗性、进化可塑性及相关分子机制 4 方面归纳介绍这一主题的重要研究进展。

1 P450 介导抗药性的普遍性

杀虫剂对于昆虫来说是外源性化合物,进入昆虫体内大多数由昆虫体内的解毒酶来催化降解。P450 单加氧酶作为Ⅰ相解毒酶,具有代谢许多结构不同的杀虫剂的能力,由 P450 介导的对杀虫剂代谢解毒增强这类代谢抗性机制在昆虫对各种类型的杀虫剂抗性中都普遍存在。

通过对 20 个不同地理来源的有机氯类杀虫剂 DDT 中等抗性的果蝇 *Drosophila melanogaster* 田间种群的研究发现,DDT 抗性与 *Cyp6g1* 的过量表达相关联(Daborn *et al.*, 2002),随后的代谢实验证明 CYP6G1 能在无氧环境下催化 DDT 的脱氯反应,生成毒性更低的 DDD(Joußen *et al.*, 2008)。冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 对 DDT 的抗性与 *CYP6Z1* 的上调表达相关,原核表达的 CYP6Z1 具有代谢 DDT 的活性(Chiu *et al.*, 2008)。二嗪磷(diazinon)抗性家蝇 *Musca domestica* 品系表现出 *CYP6A1* 的过量表达(Carino *et al.*, 1992),生化实验表明 CYP6A1 具有对二嗪磷的高水平酶催化转换率(Sabourault *et al.*, 2001)。脑部特异性过量表达 *CYP6BQ9* 是赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*(QTC279 品系)对溴氰菊酯高水平抗性的原因,该基因在抗性中的作用得到了药物代谢实验和转基因果蝇实验的验证(Zhu *et al.*, 2010)。*CYP337B3* 可以羟基化氰戊菊酯,该基因的存在导致棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 幼虫(TWB 品系)对氰戊菊酯的抗性。CYP6BQ23 基因在拟除虫菊酯类杀虫剂抗性的油菜花露尾甲 *Meligethes aeneus* 的幼虫和成虫中都过量表达,重组表达的 CYP6BQ23 表现出对溴氰菊酯和氟胺氰菊酯的羟基化催化活性(Zimmer *et al.*, 2014)。褐飞虱 *Nilaparvata lugens* *CYP6AY1* 的上调表达使其对新烟碱类(吡虫啉)产生抗性,这一结论得到了离体代谢和 RNAi 实验的支持(Ding *et al.*, 2013)。而烟粉虱 *Bemisia tabaci* CYP6CM1 可以催化吡虫啉的羟基化,其过量表达可导致烟粉虱对吡虫啉的抗性(Karunker *et al.*, 2008, 2009; Jones *et al.*, 2011)。对生长调节剂类虱螨脲抗性的果蝇表现为 *Cyp12a4* 上调表达,利用 GAL4/UAS 基因表达系统驱动 CYP12a4 的表达导致了果蝇对虱螨脲的抗性(Bogwitz *et al.*, 2005)。烟粉虱 CYP6CM1 具有解毒吡蚜酮(拒食剂)的活性,其过量表达导致了其对吡蚜酮的抗性(Nauen *et al.*, 2013)。此外,温室白粉虱 *Trialeurodes vaporariorum* 对吡丙醚的抗性与 *CYP4G61*(Karatolos *et al.*, 2012)及灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 对噻嗪酮的抗性与 *CYP6CW1* 的过量表达相关(Zhang *et al.*, 2012),但尚没有得到进一步验证。

2 P450 介导交互抗药性

相对于内源性化合物代谢的 P450, 催化外源性化合物代谢的 P450 往往具有较广谱的底物,极有可能同时具有对不同类型或作用机制的杀虫剂的代谢解毒作用,因此赋予昆虫产生交互抗药性的能力。冈比亚按蚊的 CYP6M2 具有代谢 DDT 和拟除虫菊酯的活性,因此其过量表达导致该虫对有机氯类和

拟除虫菊酯类杀虫剂的交互抗药性(Stevenson *et al.*, 2011; Mitchell *et al.*, 2012)。果蝇 CYP6G1 在无氧环境下可以还原降解 DDT 为毒性更低的 DDD，在有氧条件下可以催化吡虫啉的羟基化形成毒性较低的 4'-羟基化吡虫啉代谢产物(Joußen *et al.*, 2008)，因此 CYP6G1 过量表达的 DDT 抗性品系也表现出对吡虫啉的抗性(Daborn *et al.*, 2002)。烟粉虱 CYP6CM1 具有对新烟碱类的吡虫啉和吡啶类的吡蚜酮的羟基化活性，其过量表达导致了烟粉虱对该两类杀虫剂的交互抗性(Karunker *et al.*, 2009; Nauen *et al.*, 2012)。产生交互抗性的遗传变异，在杀虫剂的选择压下对昆虫来说是有利的，但无疑限制了可用杀虫剂的种类、增加了害虫防治的困难。

3　P450 介导抗药性的进化可塑性

同一昆虫包含多个 P450，形成该昆虫的 P450 库，不同 P450 成员的底物特异性不同，它们之间的底物可能不同也可能重叠，以满足正常的生长发育与适应不断变化的环境的需要。昆虫 P450 库中可能存在不止一个对某一特定杀虫剂具有代谢解毒作用的 P450，这些 P450 中的任何一个都有可能被选择用于应对杀虫剂的选择压力，其结果可以是：不同的昆虫种群，虽然对相同杀虫剂表现抗性，但其中起主要作用的 P450 有所不同，抗药性涉及的 P450 可能不止一种，也即细胞色素 P450 介导的抗药性表现出进化可塑性(evolutionary plasticity)。P450 介导抗药性的进化可塑性假说于 2004 年首次提出(Scott and Kasai, 2004)，已得到越来越多的事例的支持。

果蝇对 DDT 的抗性在 20 个中等抗性的田间种群中与 *Cyp6g1* 的过量表达相关(Daborn *et al.*, 2002)，而在实验室汰选的高抗性 91-R 品系和采集于田间的 Wisconsin 品系 CYP6A2 在代谢抗性中发挥作用(Wan *et al.*, 2014)。棉铃虫对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性在澳大利亚 TWB 品系中与 *CYP337B3* 相关(Joußen *et al.*, 2012)，而在中国 HDFR 品系和 YGF 品系中分别与 *CYP6B7*(Zhang *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2012)和 *CYP9A* 家族成员上调表达相关(Yang *et al.*, 2008)。家蝇 *CYP6D1* 的过量表达在美国 LPR 品系、NG98 品系对氯菊酯的抗性中起作用，但在美国 ALHF 品系、日本 YPER 品系对拟除虫菊酯类抗性中的作用不大(Scott and Kasai, 2004)。虽然在我国的家蝇溴氰菊酯抗性种群中也存在与美国 LPR 品系相同的 *CYP6D1* 的抗性等位基因(CYP6D1v1)(Qiu *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2012)，但在抗性品系中普遍过量表达的是另一种 P450 基因 *CYP6G4*(Gao *et al.*, 2012)。褐飞虱对吡虫啉的抗性在源于泰国的 NL9 品系中与 *CYP6ER1* 相关(Bass *et al.*, 2011)，而在从安徽安庆采集的、经实验室汰选的 Res 品系中与 *CYP6AY1* 过量表达相关(Ding *et al.*, 2013)。

越来越多的研究实例显示，昆虫抗药性涉及的解毒酶基因可能都不止 1 个。例如，棉铃虫 YGF 抗性品系对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性与 CYP9A12 和 CYP9A14 的共同过量表达相关(Yang *et al.*, 2006)，且该两个 P450 都具有代谢顺式氰戊菊酯的活性(Yang *et al.*, 2008)。我国多个拟除虫菊酯抗性家蝇种群都表现出多个 P450 的过量表达(Gao *et al.*, 2012)。烟粉虱对吡虫啉的抗性除与 CYP6CM1 过量表达相关外，最近的研究发现还与 CYP4C64 有关(Yang *et al.*, 2013)。近期在转录组水平比较分析发现，对不同药剂的昆虫抗性品系均有多个 P450 基因过量表达，例如灰飞虱对溴氰菊酯抗性与多个 P450 的过量表达相关(Xu *et al.*, 2013)。

4　P450 介导抗药性的分子机制

P450 介导的杀虫剂代谢解毒活性增加可以使昆虫产生对杀虫剂的抗性。增强的杀虫剂代谢解毒作用可能是因为酶量的增加，也可能是由于酶结构的变化引起的酶解毒活性的增强。最近的研究还发现，昆虫抗药性也可能是因为具有新活性的 P450 的存在。

4.1　酶表达量的增加

抗性相关的 P450 的酶量增加已发现有两种机制：一是基因组层面上的基因拷贝数的增加，是基因重复或基因扩增事件的结果；二是基因转录层面上的基因上调表达，受顺式(*cis*-)或反式(*trans*-)因子、或顺式与反式因子的共同调控。从现有的研究资料来看，第二种机制更为普遍。

抗性相关的 P450 基因重复目前仅有少数几个报道事例：1)具有拟除虫菊酯抗性的致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* 的基因组中检测到两个 *CYP9M10* 基因，序列比对结果表明它们的转录启始上游 1.1 kb 和全转录区的序列完全相同(Itokawa *et al.*, 2010)；2)在 DDT 抗性果蝇中鉴定出 4 个存在 *Cyp6g1* 基因重复的抗性等位基因(Schmidt *et al.*, 2010)。P450 基因扩增现象也不多见，在桃蚜新烟

碱类杀虫剂抗性品系(clone 5191A)中发现 *CYP6CY3* 基因扩增,其基因组中 *CYP6CY3* 基因的拷贝数是敏感品系(clone 4106A)的 9 倍(Puinean *et al.*, 2010)。

抗性相关 P450 普遍表现为在抗性品系中组成性上调表达。果蝇 DDT 抗性相关的 *Cyp6g1* 的上调表达受其 5′非翻译区的反转录转座子(retrotransposon)*Accord* 插入的调控,该转座元件起着组织特异性增强子的作用,使 *Cyp6g1* 在果蝇的中肠和脂肪体等组织中特异性过量表达(Chung *et al.*, 2007)。在家蝇染色体 5 的 *CYP6A1* 基因的上游调控区没有发现抗性相关的顺式作用元件的变异,推测有机磷抗性品系中 *CYP6A1* 的表达是受位于染色体 2 的反式作用因子的调控;该作用因子是转录抑制子,负调控 *CYP6A1* 的表达,抗性突变解除了这种抑制,使 *CYP6A1* 在抗性品系中过量表达(Feyereisen *et al.*, 1995)。

家蝇 *CYP6D1* 和果蝇 *Cyp6a2* 在抗性品系中过量表达同时受顺式和反式调控。拟除虫菊酯抗性品系(LPR)的 *CYP6D1* 基因的 5′-侧翼区包含一段 15 bp 的插入,该片段插入打断了一个转录抑制子 Gfi-1 的结合位点,该结合位点的失去降低了 Gfi-1 对 *CYP6D1* 基因表达的抑制作用,导致 *CYP6D1* 的表达量提升约 10 倍(Gao and Scott, 2006);进一步研究发现,*CYP6D1* 的表达也受染色体 2 的反式作用因子的调控,但该因子还没有得到鉴定(Lin and Scott, 2011)。高抗性的 91-R 品系果蝇的 *Cyp6a2* 基因 5′侧翼区包含完整的 CnCC/maf 结合位点,CnCC(Nrf2 的同源基因)起转录活化子的作用(Misra *et al.*, 2013);在 DDT 敏感品系果蝇中,该结合位点不完整,CYP6A2 表达量也相应较低(Wan *et al.*, 2014);遗传学的实验数据显示 DDT 抗性品系中 *Cyp6a2* 的增强表达还需要位于染色体 3 的反式作用因子(Maitra *et al.*, 2000)。

P450 在抗性昆虫中过量表达也可能归因于基因拷贝数增加和转录增强双重因素。*Cyp6g1* 在有些个体中同时具有 *Accord* 转座元件插入和基因复制(Schmidt *et al.*, 2010);在抗性致倦库蚊中发现 *Cyp9m10* 基因重复和顺式转座元件(CuRE1)共同上调该基因的表达(Itokawa *et al.*, 2010; Wilding *et al.*, 2012)。

4.2 酶活性的改变

P450 介导的抗药性可能涉及到酶活性的改变。在果蝇高抗性的 RDDTR 品系中发现 CYP6A2 发生了 R335S, L336V, V476L 3 个点突变,重组表达的 CYP6A2vSVL 突变体表现出增强的代谢 DDT 的活性(Amichot *et al.*, 2004)。

P450 介导的抗药性也可以是因为具有新代谢活性 P450 的存在。从拟除虫菊酯抗性的棉铃虫中发现了一个新的 P450(CYP337B3),该蛋白的编码基因推测是由在染色体上紧密相连的 *CYP337B1* 和 *CYP337B2* 基因间发生不均等交换(unequal crossing-over)所形成的嵌合体,这一重组事件产生的蛋白(CYP337B3)具有 CYP337B1 和 CYP337B2 蛋白不具备的催化氰戊菊酯羟基化的活性。这一发现突破了以往的对 P450 介导抗药性的概念,表明 P450 的上调表达或对探针底物催化活性增强不能用作评判 P450 在抗药性中起作用的决定性指标。

高水平抗性有可能是酶量的增加和酶活性增强共同作用的结果。DDT 高抗性的 $RDDT^R$ 品系果蝇的 CYP6A2 不仅存在上文所述的更高活性的点突变(Amichot *et al.*, 2004),相对敏感品系而言,*Cyp6a2* 基因的表达量也高得多(Misra *et al.*, 2013)。

5 结语

昆虫的危害是人类面临的一个实际问题,化学防治仍旧是当今害虫防治的主要手段。人类为防治害虫,研发了各种结构不同、作用靶标和作用方式各异的杀虫剂,但使用一段时间后,昆虫无一例外地产生了抗药性。大量事例表明 P450 在昆虫对各种类型的杀虫剂的抗药性发展过程中起着非常重要的作用。近年来,对由 P450 介导的杀虫剂代谢抗性机制的认识逐渐深入,但在分子水平上比较系统的研究工作还仅限于少数几种昆虫对少数几种药剂的抗性;大多数研究还停滞在抗药性与 P450 的相关性描述,而没有建立 P450 与抗药性的因果关系;抗性相关 P450 的底物谱及其基因表达调控机制远没有得到全面或清楚的阐明。这种局面的形成很大程度上归因于 P450 的多样性与复杂性,使得解析多样化的 P450 的功能与调控机制的工作非常困难。随着昆虫全基因组序列资源的日益丰富,加上遗传操作、生物化学和分子生物学技术的飞速发展,必将促进该一重要主题研究工作的快速进展。目前已取得的研究发现给予我们许多重要的启示: P450 介导抗性的普遍性与交互抗性强调了 P450 结构、功能与调控研究的重要性; P450 介导抗性的进化可塑性提醒我们抗性监测和抗性治理要因地制宜并防范抗性等

位基因的异地传播与扩散；P450 介导抗药性的分子机制的多样性与多重性表明抗性等位基因存在数量多样化与生态演替的可能性，提示抗性机制的研究、抗性监测以及抗性治理要有动态的理念。

参考文献（References）

Amichot M, Tares S, Brun-Barale A, Arthaud L, Bride JM, Berge JB, 2004. Point mutations associated with insecticide resistance in the *Drosophila* cytochrome P450 *Cyp6a2* enable DDT metabolism. *Eur. J. Biochem.*, 271: 1250 – 1257.

Bass C, Carvalho RA, Oliphant L, Puinean AM, Field LM, Nauen R, Williamson MS, Moores G, Gorman K, 2011. Overexpression of a cytochrome P450 monooxygenase, CYP6ER1, is associated with resistance to imidacloprid in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Mol. Biol.*, 20: 763 – 773.

Bogwitz MR, Chung H, Magoc L, Rigby S, Wong W, O'Keefe M, McKenzie JA, Batterham P, Daborn PJ, 2005. *Cyp12a4* confers lufenuron resistance in a natural population of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102: 12807 – 12812.

Carino F, Koener JF, Plapp FW, Feyereisen R, 1992. Expression of the cytochrome-P450 gene *Cyp6a1* in the housefly, *Musca domestica*. *ACS Sym. Ser.*, 505: 31 – 40.

Chiu TL, Wen ZM, Rupasinghe SG, Schuler MA, 2008. Comparative molecular modeling of *Anopheles gambiae* CYP6Z1, a mosquito P450 capable of metabolizing DDT. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105: 8855 – 8860.

Chung H, Bogwitz MR, McCart C, Andrianopoulos A, Ffrench-Constant RH, Batterham P, Daborn PJ, 2007. *Cis*-regulatory elements in the *Accord* retrotransposon result in tissue-specific expression of the *Drosophila melanogaster* insecticide resistance gene *Cyp6g1*. *Genetics*, 175: 1071 – 1077.

Daborn PJ, Yen JL, Bogwitz MR, Le Goff G, Feil E, Jeffers S, Tijet N, Perry T, Heckel D, Batterham P, Feyereisen R, Wilson TG, ffrench-Constant RH, 2002. A single P450 allele associated with insecticide resistance in *Drosophila*. *Science*, 297: 2253 – 2256.

Ding Z, Wen Y, Yang B, Zhang Y, Liu S, Liu Z, Han Z, 2013. Biochemical mechanisms of imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*: over-expression of cytochrome P450 CYP6AY1. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 43: 1021 – 1027.

Feyereisen R, 2012. Insect CYP genes and P450 enzymes. In: Gilbert LI ed. Insect Molecular Biology and Biochemistry. Elsevier, Oxford. 236 – 316.

Feyereisen R, Andersen JF, Carino FA, Cohen MB, Koener JF, 1995. Cytochrome-P450 in the house-fly-structure, catalytic activity and regulation of expression of CYP6A1 in an insecticide-resistant strain. *Pesticide Science*, 43: 233 – 239.

Gao J, Scott JG, 2006. Role of the transcriptional repressor *mdGfi-1* in *CYP6D1v1*-mediated insecticide resistance in the house fly, *Musca domestica*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 36: 387 – 395.

Gao Q, Li M, Sheng C, Scott JG, Qiu X, 2012. Multiple cytochrome P450s overexpressed in pyrethroid resistant house flies (*Musca domestica*). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 104: 252 – 260.

Iga M, Kataoka H, 2012. Recent studies on insect hormone metabolic pathways mediated by cytochrome P450 enzymes. *Biol. Pharm. Bull.*, 35(6): 838 – 843.

Itokawa K, Komagata O, Kasai S, Okamura Y, Masada M, Tomita T, 2010. Genomic structures of *Cyp9m10* in pyrethroid resistant and susceptible strains of *Culex quinquefasciatus*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 40: 631 – 640.

Jones CM, Daniels M, Andrews M, Slater R, Lind RJ, Gorman K, Williamson MS, Denholm I, 2011. Age-specific expression of a P450 monooxygenase (CYP6CM1) correlates with neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 101: 53 – 58.

Jouβen N, Agnolet S, Lorenz S, Schone SE, Ellinger R, Schneider B, Heckel DG, 2012. Resistance of Australian *Helicoverpa armigera* to fenvalerate is due to the chimeric P450 enzyme CYP337B3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109: 15206 – 15211.

Jouβen N, Heckel DG, Haas M, Schuphan I, Schmidt B, 2008. Metabolism of imidacloprid and DDT by P450 GYP6G1 expressed in cell cultures of *Nicotiana tabacum* suggests detoxification of these insecticides in Cyp6g1-overexpressing strains of *Drosophila melanogaster*, leading to resistance. *Pest Manag. Sci.*, 64: 65 – 73.

Karatolos N, Williamson MS, Denholm I, Gorman K, ffrench-Constant RH, Bass C, 2012. Over-expression of a cytochrome P450 is associated with resistance to pyriproxyfen in the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *PLoS ONE*, 7(2): e31077.

Karunker I, Benting J, Lueke B, Ponge T, Nauen R, Roditakis E, Vontas J, Gorman K, Denholm I, Morin S, 2008. Over-expression of cytochrome P450 CYP6CM1 is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38: 634 – 644.

Karunker I, Morou E, Nikou D, Nauen R, Sertchook R, Stevenson BJ, Paine MJI, Morin S, Vontas J, 2009. Structural model and functional characterization of the *Bemisia tabaci* CYP6CM1vQ, a cytochrome P450 associated with high levels of imidacloprid resistance. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 39: 697 – 706.

Klingenberg M, 1958. Pigments of rat liver microsomes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 75: 376 – 386.

Lin GGH, Scott JG, 2011. Investigations of the constitutive overexpression of *CYP6D1* in the permethrin resistant LPR strain of house fly (*Musca domestica*). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 100: 130 – 134.

Maitra S, Dombrowski SM, Basu M, Raustol O, Waters LC, Ganguly R, 2000. Factors on the third chromosome affect the level of *Cyp6a2* and *Cyp6a8* expression in *Drosophila melanogaster*. *Gene*, 248: 147 – 156.

Misra JR, Lam G, Thummel CS, 2013. Constitutive activation of the Nrf2/Keap1 pathway in insecticide-resistant strains of *Drosophila*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 43: 1116 – 1124.

Mitchell SN, Stevenson BJ, Muller P, Wilding CS, Egyir-Yawson A, Field SG, Hemingway J, Paine MJI, Ranson H, Donnelly MJ,

2012. Identification and validation of a gene causing cross-resistance between insecticide classes in *Anopheles gambiae* from Ghana. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109: 6147-6152.

Nauen R, Vontas J, Kaussmann M, Wolfel K, 2013. Pymetrozine is hydroxylated by CYP6CM1, a cytochrome P450 conferring neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci*. *Pest Manag. Sci.*, 69: 457-461.

Omura T, Sato R, 1962. A new cytochrome in liver microsomes. *J. Biol. Chem.*, 237: 1375-1376.

Omura T, Sato R, 1964. Carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes . I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.*, 239: 2370-2378.

Puinean AM, Foster SP, Oliphant L, Denholm I, Field LM, Millar NS, Williamson MS, Bass C, 2010. Amplification of a cytochrome P450 gene is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. *PLoS Genet.*, 6(6): e1000999.

Qiu X, Li M, Luo H, Fu T, 2007. Molecular analysis of resistance in a deltamethrin-resistant strain of *Musca domestica* from China. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 89: 146-150.

Qiu Y, Tittiger C, Wicker-Thomas C, Le Goff G, Young S, Wajnberg E, Fricaux T, Taquet N, Blomquist GJ, Feyereisen R, 2012. An insect-specific P450 oxidative decarbonylase for cuticular hydrocarbon biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109: 14858-14863.

Schmidt JM, Good RT, Appleton B, Sherrard J, Raymant GC, Bogwitz MR, Martin J, Daborn PJ, Goddard ME, Batterham P, Robin C, 2010. Copy number variation and transposable elements feature in recent, ongoing adaptation at the *Cyp6g1* locus. *PLoS Genet.*, 6(6): e1000998.

Schuler MA, 2011. P450s in plant-insect interactions. *Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics*, 1814(1): 36-45.

Scott JG, Kasai S, 2004. Evolutionary plasticity of mono oxygenase-mediated resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 78: 171-178.

Stevenson BJ, Bibby J, Pignatelli P, Muangnoicharoen S, O'Neill PM, Lian LY, Muller P, Nikou D, Steven A, Hemingway J, Sutcliffe MJ, Paine MJI, 2011. Cytochrome P450 6M2 from the malaria vector *Anopheles gambiae* metabolizes pyrethroids: sequential metabolism of deltamethrin revealed. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 41: 492-502.

Tang T, Zhao CQ, Feng XY, Liu XY, Qiu LH, 2012. Knockdown of several components of cytochrome P450 enzyme systems by RNA interference enhances the susceptibility of *Helicoverpa armigera* to fenvalerate. *Pest Manag. Sci.*, 68: 1501-1511.

Wan H, Liu Y, Li M, Zhu S, Li X, Pittendrigh BR, Qiu X, 2014. Nrf2/Maf binding site-containing functional *Cyp6a2* allele is associated with DDT resistance in *Drosophila melanogaster*. *Pest Manag. Sci.*, DOI 10.1002/ps.3645.

Wang L, Dankert H, Perona P, Anderson DJ, 2008. A common genetic target for environmental and heritable influences on aggressiveness in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105(15): 5657-5663.

Wang Q, Li M, Pan J, Di MC, Liu Q, Meng F, Scott JG, Qiu X, 2012. Diversity and frequencies of genetic mutations involved in insecticide resistance in field populations of the house fly (*Musca domestica* L.) from China. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 102: 153-159.

Wilding CS, Smith I, Lynd A, Yawson AE, Weetman D, Paine MJI, Donnelly MJ, 2012. A *cis*-regulatory sequence driving metabolic insecticide resistance in mosquitoes: functional characterisation and signatures of selection. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 42: 699-707.

Xu L, Wu M, Han Z, 2013. Overexpression of multiple detoxification genes in deltamethrin resistant *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae) in China. *PLoS ONE*, 8(11): e79443.

Yang X, Xie W, Wang S, Wu Q, Pan H, Li R, Yang N, Liu B, Xu B, Zhou X, Zhang Y, 2013. Two cytochrome P450 genes are involved in imidacloprid resistance in field populations of the whitefly, *Bemisia tabaci*, in China. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 107: 343-350.

Yang Y, Chen S, Wu S, Yue L, Wu Y, 2006. Constitutive overexpression of multiple cytochrome P450 genes associated with pyrethroid resistance in *Helicoverpa armigera*. *J. Econ. Entomol.*, 99: 1784-1789.

Yang Y, Yue L, Chen S, Wu Y, 2008. Functional expression of *Helicoverpa armigera* CYP9A12 and CYP9A14 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 92: 101-105.

Zhang H, Tang T, Cheng Y, Shui R, Zhang W, Qiu L, 2010. Cloning and expression of cytochrome P450 CYP6B7 in fenvalerate-resistant and susceptible *Helicoverpa armigera* (Hübner) from China. *J. Appl. Entomol.*, 134: 754-761.

Zhang Y, Guo H, Yang Q, Li S, Wang L, Zhang G, Fang J, 2012. Overexpression of a P450 gene (CYP6CW1) in buprofezin-resistant *Laodelphax striatellus* (Fallen). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 104: 277-282.

Zhu F, Parthasarathy R, Bai H, Woithe K, Kaussmann M, Nauen R, Harrison DA, Palli SR, 2010. A brain-specific cytochrome P450 responsible for the majority of deltamethrin resistance in the QTC279 strain of *Tribolium castaneum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107: 8557-8562.

Zimmer CT, Bass C, Williamson MS, Kaussmann M, Wölfel K, Gutbrod O, Nauen R, 2014. Molecular and functional characterization of CYP6BQ23, a cytochrome P450 conferring resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle, *Meligethes aeneus*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 45: 18-29.

（责任编辑：赵利辉）